

# Dinâmica Dos Imunocomplexos Fármaco-Anticorpo Anti-Fármaco

Ramos L<sup>1</sup>, Garcês S<sup>2,3</sup>, Barosa R<sup>1</sup>, Nunes A<sup>1</sup>, Regalado A<sup>3</sup>, Vieira A<sup>1</sup>, Freitas J<sup>1</sup>, Demengeont J<sup>3</sup>

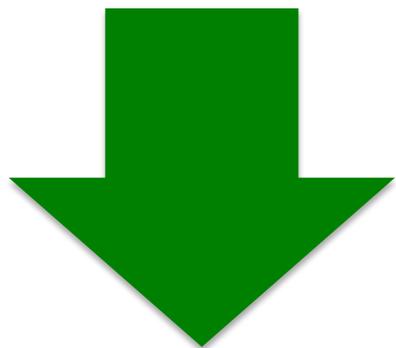
<sup>1</sup> Serviço de Gastrenterologia, Hospital Garcia de Orta

<sup>2</sup> Centro de Investigação, Hospital Garcia de Orta

<sup>3</sup> Instituto Gulbenkian Ciência



## ANTI-TNF $\alpha$



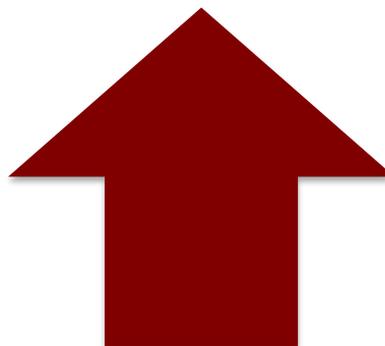
Perda de resposta  
Reações adversas  
Custos

## IMUNOGENICIDADE

A  
D  
A<sub>B</sub>



Remissão livre corticoterapia  
Redução internamentos  
Redução cirurgias



Baert F et al. New England Journal of Medicine, 2003.

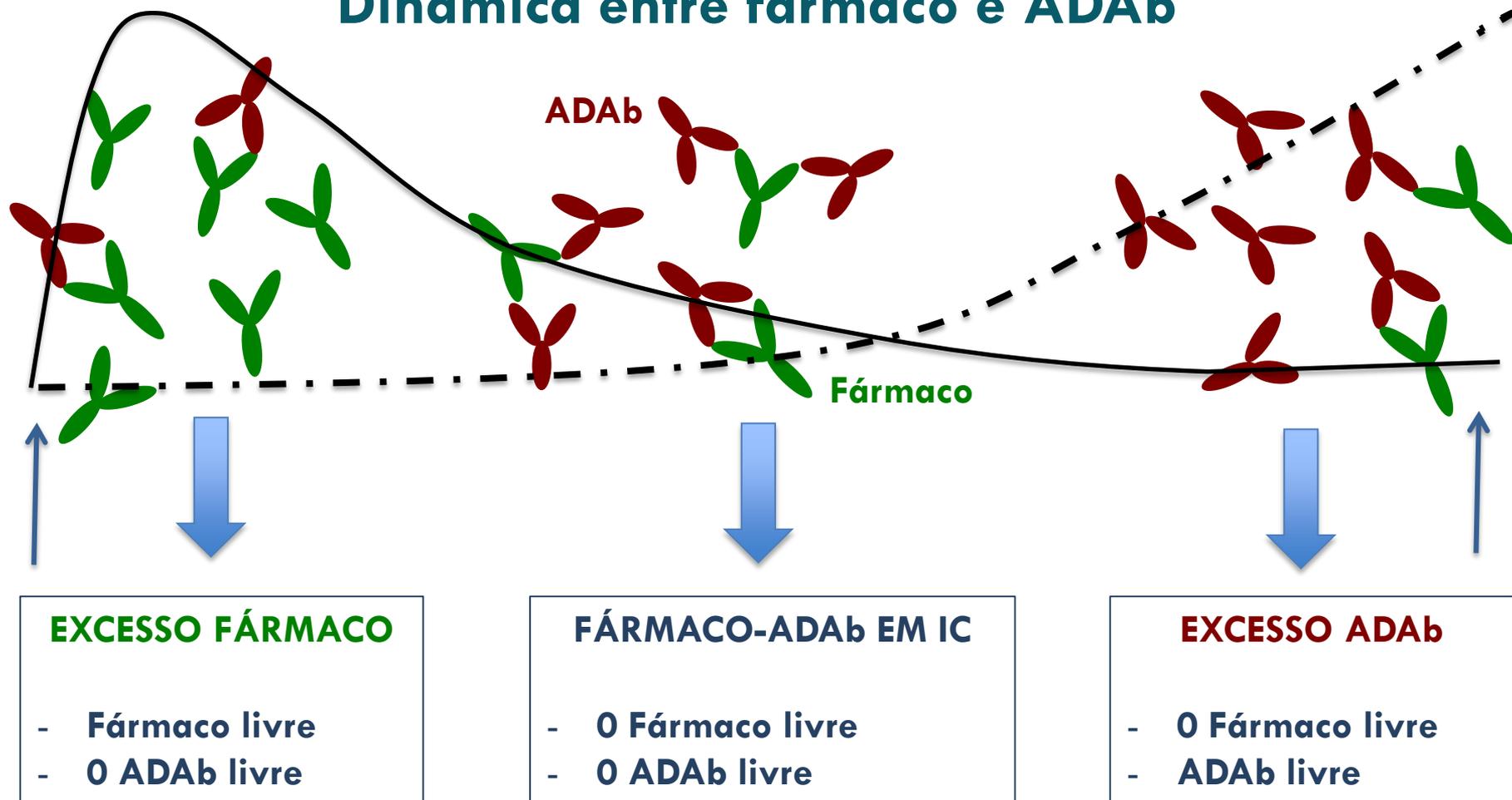
Ben-Horin S, Chowers Y. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology, 2014

Moss AC, Gastroenterology Report, 2015

Garcês S et al. Ann Rheum Dis 2012



## Dinâmica entre fármaco e ADAb

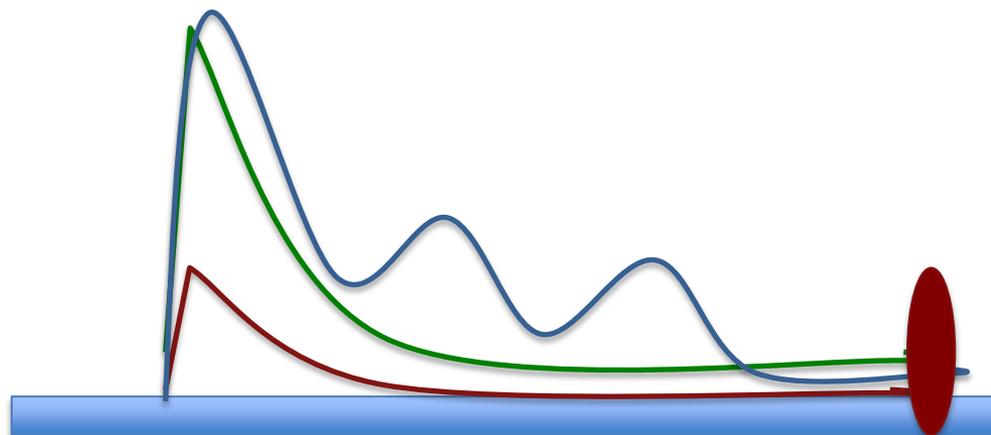


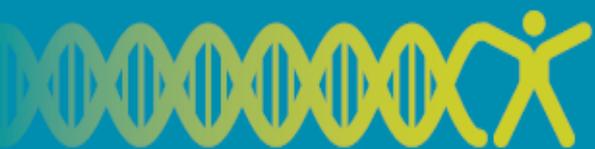
- Os ensaios mais comuns não conseguem detectar ADAb em complexo com o fármaco  
(*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, RadiolImmunoAssay*)



## Qual a relevância clínica dos ADA totais?

- ① Avaliar a **farmacocinética** do anti-TNF $\alpha$  durante o intervalo entre 2 administrações.
- ① Avaliar a **presença de ADA livres e totais** entre 2 administrações e o seu impacto nos níveis de anti-TNF $\alpha$ .





Aprovado pela Comissão de Ética da Instituição

Apoio da Bolsa de Investigação NGHD 2012

## DESENHO DO ESTUDO

Prospectivo, exploratório, observacional

## POPULAÇÃO

Adultos ( $\geq 18$  anos)

Doença Inflamatória Intestinal

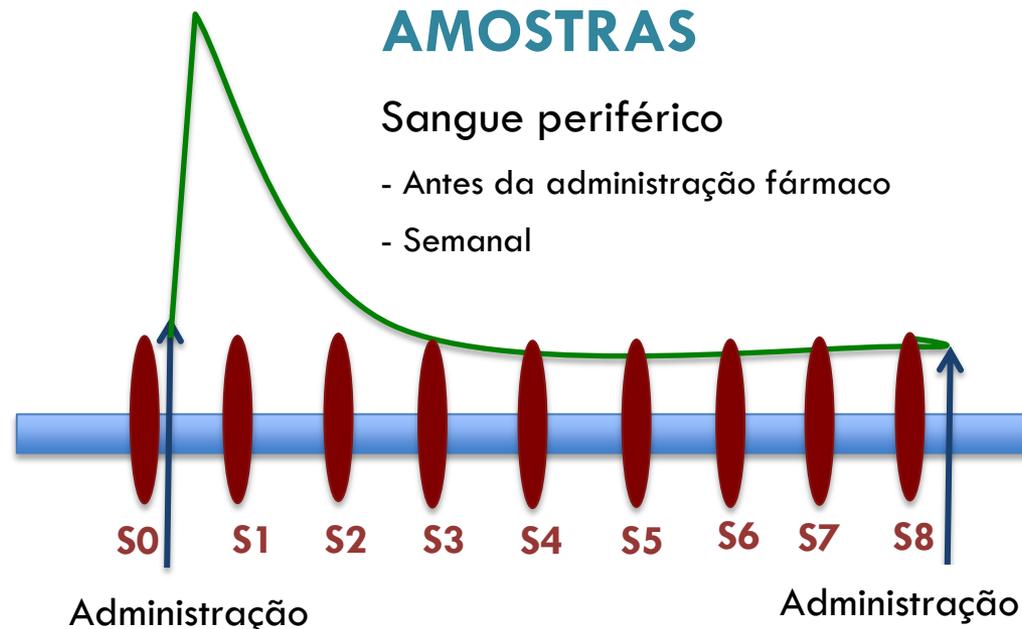
Sob infliximab

Seguidos em Hospital de Dia

## AMOSTRAS

Sangue periférico

- Antes da administração fármaco
- Semanal





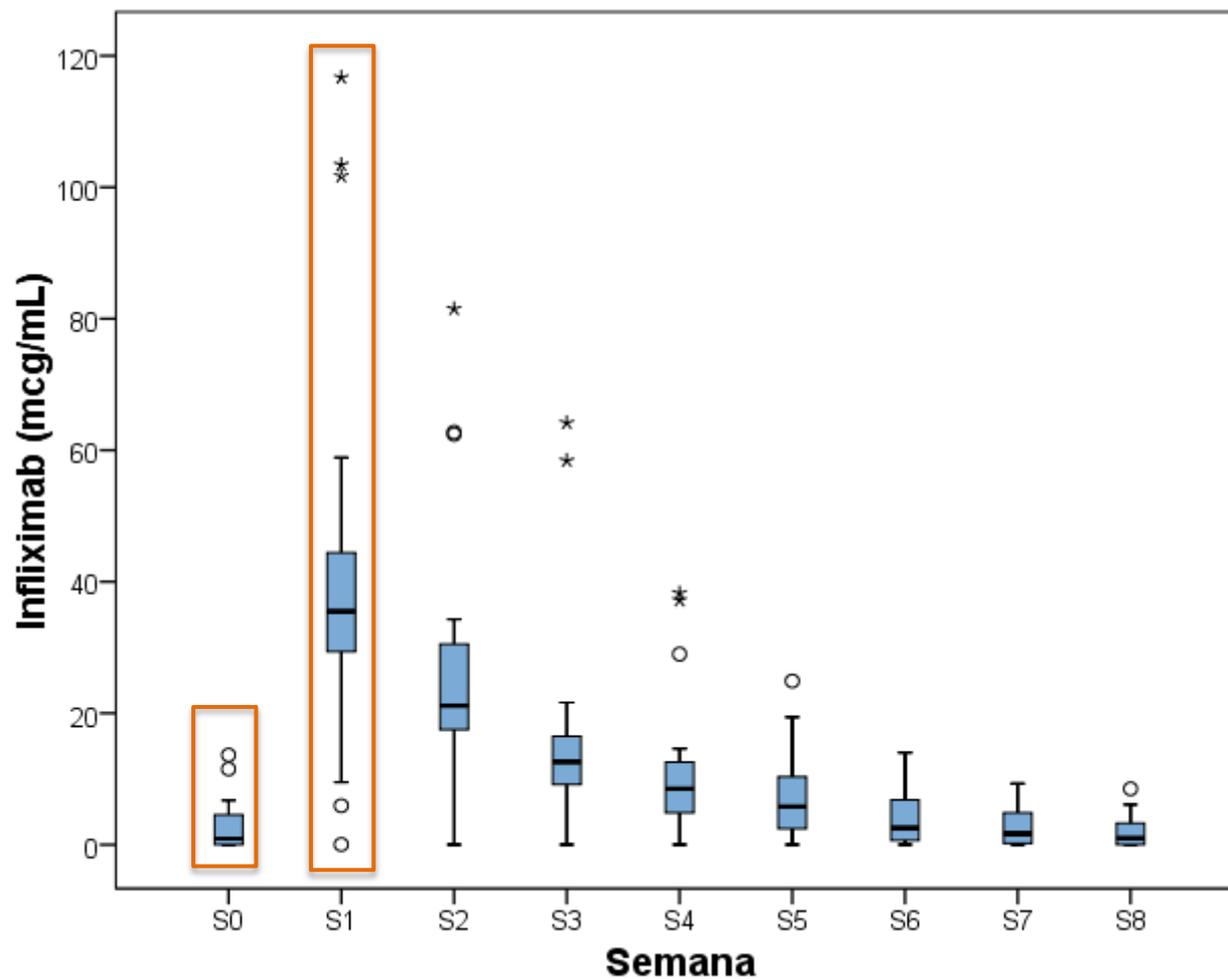
## Características Demográficas Da População n=22

<b>Tipo de DII (N (%))</b>	<b>Doença de Crohn 17 (77)</b>		<b>Colite Ulcerosa 5 (23)</b>		<b>Total 22 (100)</b>
<b>Localização (N (%))</b>	Ileal (L1)	2 (12)	Colite esquerda (E2)	3 (60)	-
	Cólica (L2)	3 (18)		Colite extensa (E3)	
	Ileocólica (L3)	10 (59)			
	L1 + TGI superior (L4)	1 (6)			
	L3 + L4	1 (6)			
<b>Comportamento (N (%))</b>	Inflamatório (B1)	6 (35)	Corticodependente 5 (100)		-
	Estenosante (B2)	3 (18)			
	Penetrante (B3)	3 (18)			
	B2B3	5 (29)			
<b>Perianal (N (%))</b>	7 (41)		1 (20)		8 (36)
<b>Idade diagnóstico<sup>1</sup></b>	29 (14-47)		47 (29-59)		31 (14 – 59)
<b>Género masculino (N (%))</b>	6 (35)		1 (20)		7 (32)
<b>Naives biológicos (N (%))</b>	16 (94)		5 (100)		22 (100)
<b>Imunomoduladores (N (%))</b>	14 (82)		2 (40)		16 (73)
<b>Duração doença – 1ªIFX<sup>2</sup></b>	11 (0-192)		42 (33 – 126)		33 (0 – 192)
<b>Duração IFX – 1ªamostra<sup>2</sup></b>	43 (5 – 90)		40 (27-42)		41 (5 – 90)
<b>Dose IFX (N (%))</b>					
	Standard 5 mg/kg 8/8s	13 (76)	4 (80)		17 (77)
Intensificação da dose <sup>3</sup>	4 (24)		1 (20)		5 (23)

<sup>1</sup>Mediana (min-max) anos; <sup>2</sup>Mediana (min-max) em meses <sup>3</sup> 10 mg/kg 8/8s (n=3) | 5 mg/kg 6/6 s (n=1) | 5 mg/kg 4/4 s (n=1)



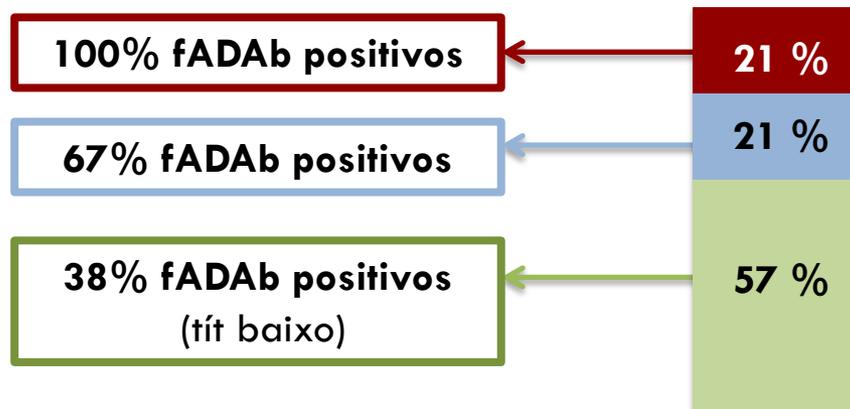
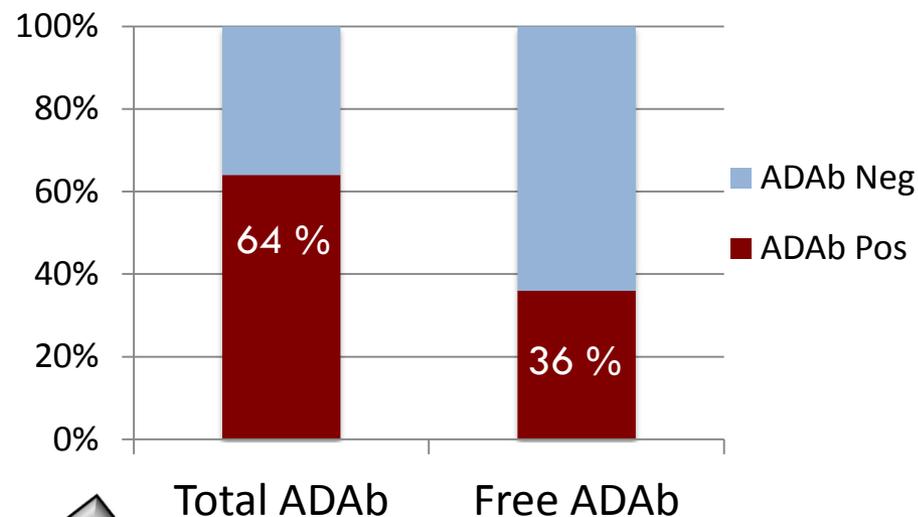
## Níveis de Infliximab ao longo do intervalo entre 2 administrações



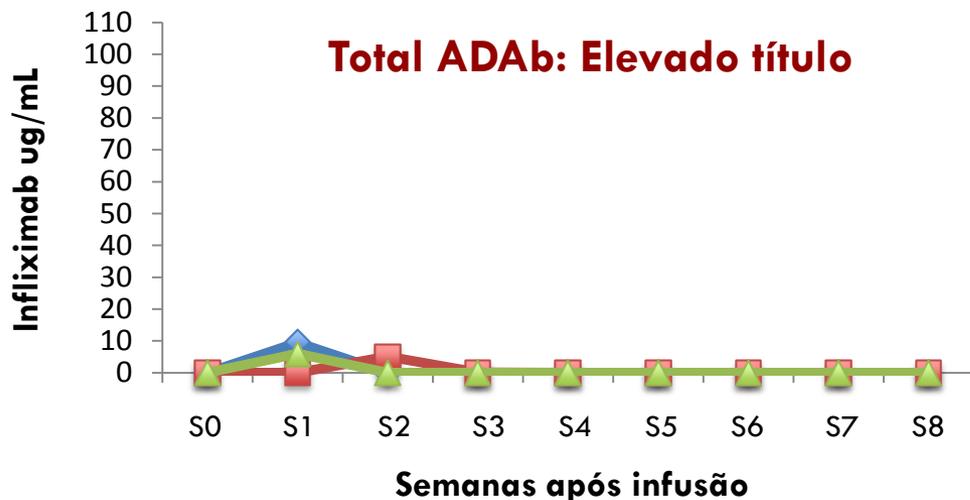


## Anticorpos totais (tADAb) e livres (fADAb) em vale:

**Níveis de tADAb constantes ao longo do intervalo**



- Elevado título ( $\geq 150$  AU/ml)
- Moderado título (20-40 AU/ml)
- Baixo título ( $\leq 15$  AU/ml)



Total, N=3

N

Remissão clínica e laboratorial

3

Remissão endoscópica

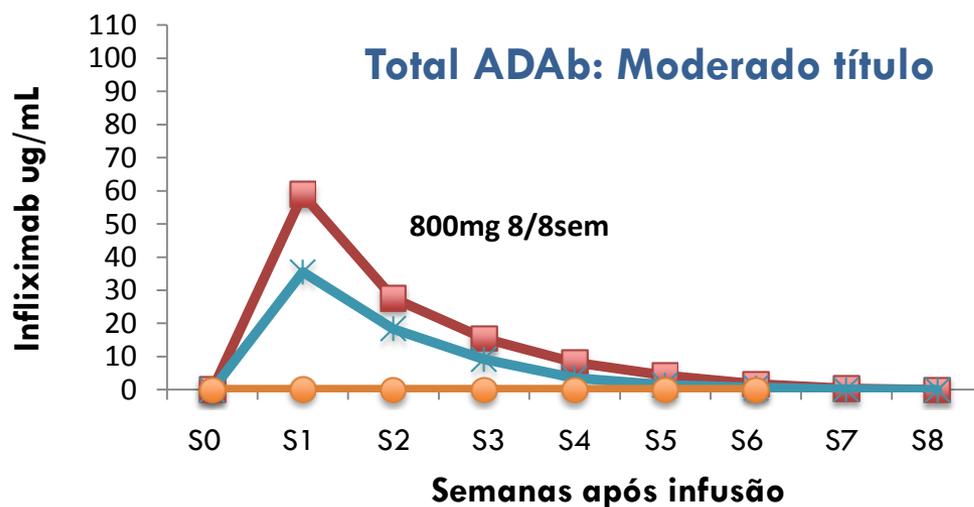
1 (1)

Imunossupressão

2

**Reações de hipersensibilidade**

**2**



Total, N=3

N

Remissão clínica e laboratorial

1

Doença endoscopicamente ativa

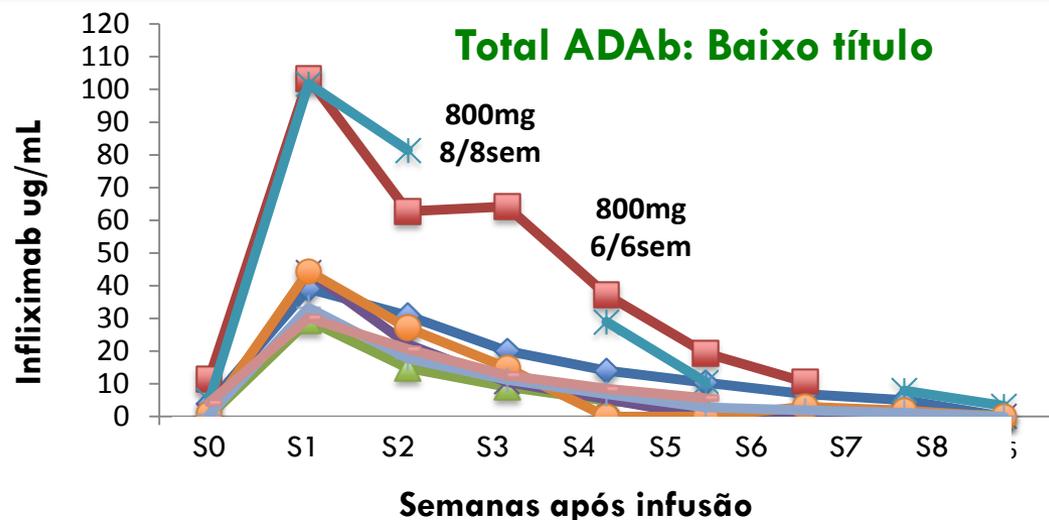
2 (2)

Imunossupressão

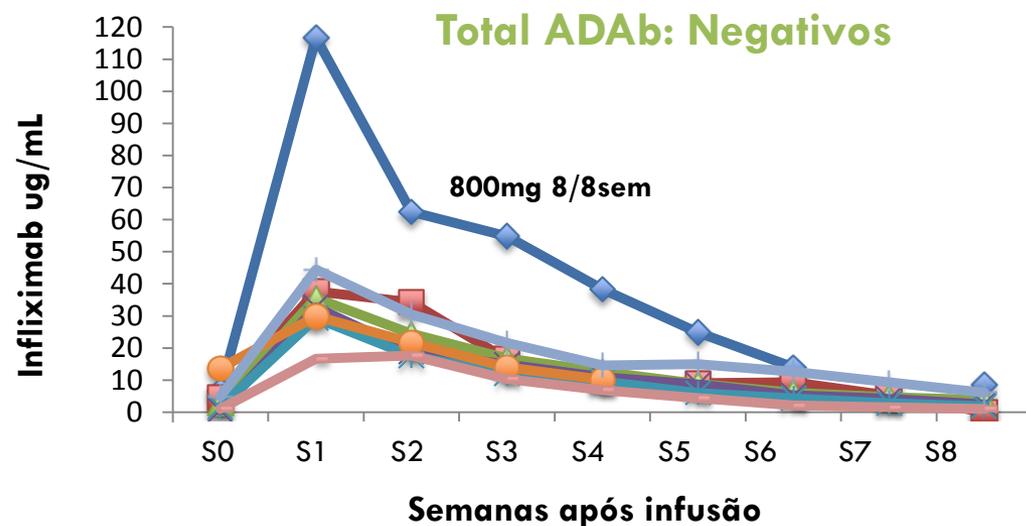
1

**Reações de hipersensibilidade**

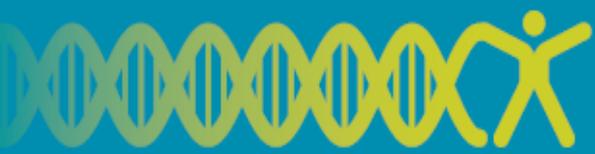
**1**



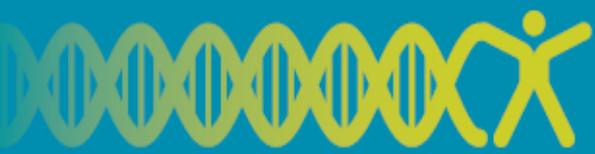
Total, N=8	N
Remissão clínica e laboratorial	5
Doença ativa (endoscópica)	3 (1)
Imunossupressão	5
Reações de hipersensibilidade	3



Total, N=8	N
Remissão clínica e laboratorial	4
Remissão endoscópica	4 (4)
Imunossupressão	7
Reações de hipersensibilidade	0



- Existe grande variabilidade inter-individual no **perfil farmacocinético dos níveis séricos de IFX**.
  - Espaço para individualizar a terapêutica
  
- A **determinação de ADAbs totais Vs. Livres** permite identificar um **maior número** de doentes com anticorpos anti-fármaco em circulação.



- Títulos **moderados-elevados** ADA totais (a maioria ADA livre positivos) estão associados a uma **rápida redução da biodisponibilidade** do infliximab.
- Títulos **baixos de ADA totais** (a maioria ADA livre negativos) têm **pouco impacto na farmacocinética do IFX**, contudo, poderão identificar um subgrupo de doentes em risco de desenvolver imunogenicidade clinicamente significativa.



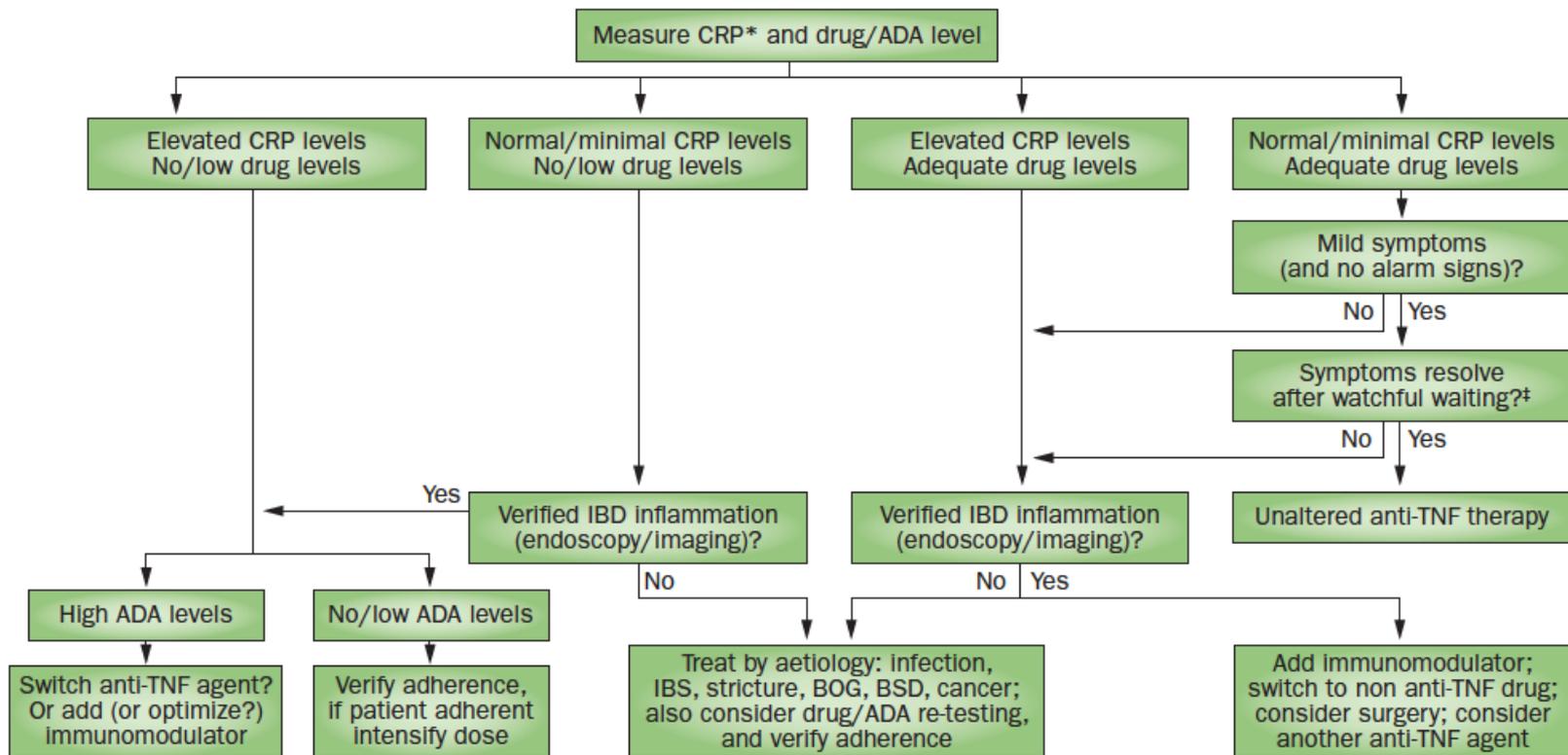
# Dinâmica Dos Imunocomplexos Fármaco-Anticorpo Anti-Fármaco

Ramos L<sup>1</sup>, Garcês S<sup>2,3</sup>, Barosa R<sup>1</sup>, Nunes A<sup>1</sup>, Regalado A<sup>3</sup>, Vieira A<sup>1</sup>, Freitas J<sup>1</sup>, Demengeont J<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Gastrenterologia, Hospital Garcia de Orta

<sup>2</sup> Centro de Investigação, Hospital Garcia de Orta

<sup>3</sup> Instituto Gulbenkian Ciência



**Figure 1** | A proposed algorithm for managing loss of response. \*CRP is used as a generic term for any one of (or combination of) CRP, calprotectin, lactoferrin or any other biochemical assays of active inflammation. †Symptomatic treatment (anti-spasmodics, anaesthetics, etc.) might be administered as part of the expectant management. Abbreviations: BOG, bacterial overgrowth; BSD, bile salt diarrhoea; CRP, C-reactive protein.

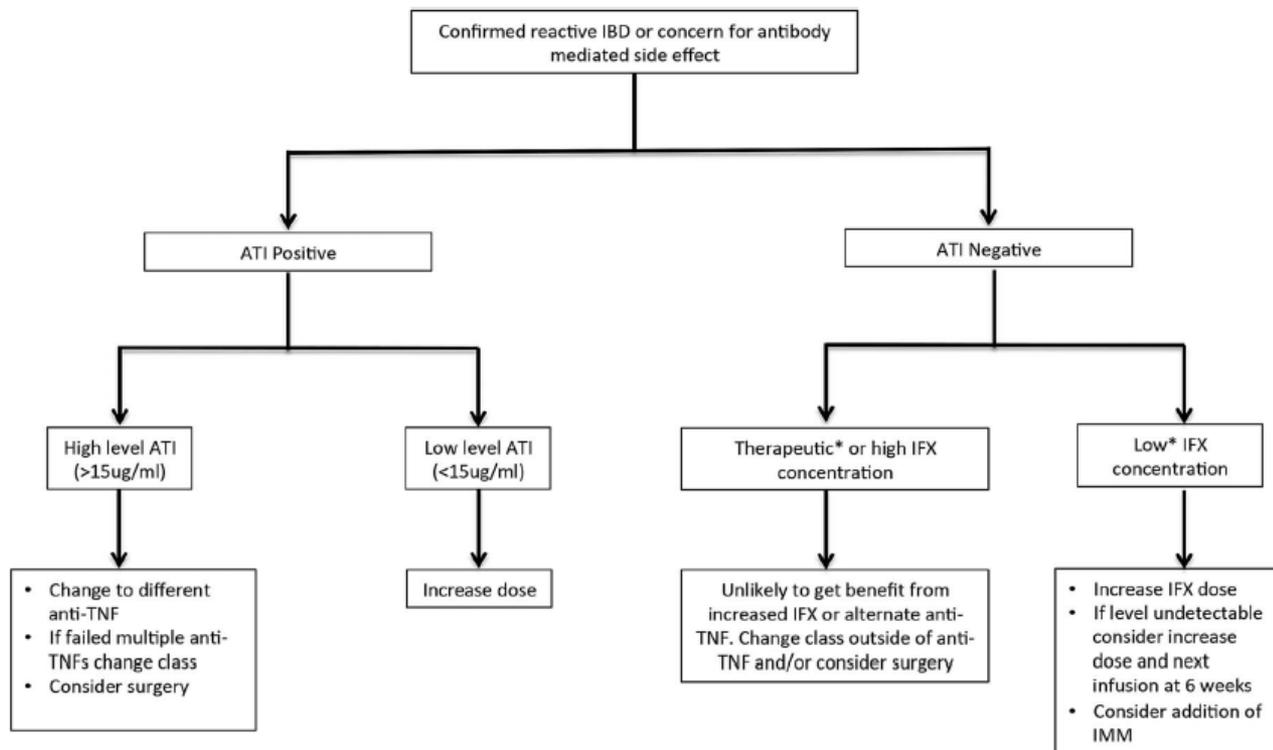
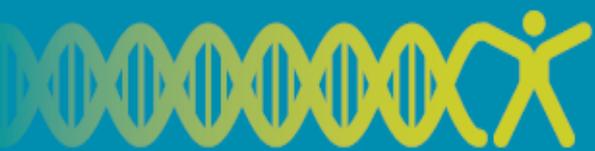


FIGURE 1. Clinical algorithm for using reactive IFX concentration and antibody status to guide therapy decisions. \*Exact upper and lower limit are unknown. The authors suggest a therapeutic concentration to be 5 to 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , whereas a low concentration is  $<5 \mu\text{g}/\text{mL}$ . IMM: Immunomodulator.

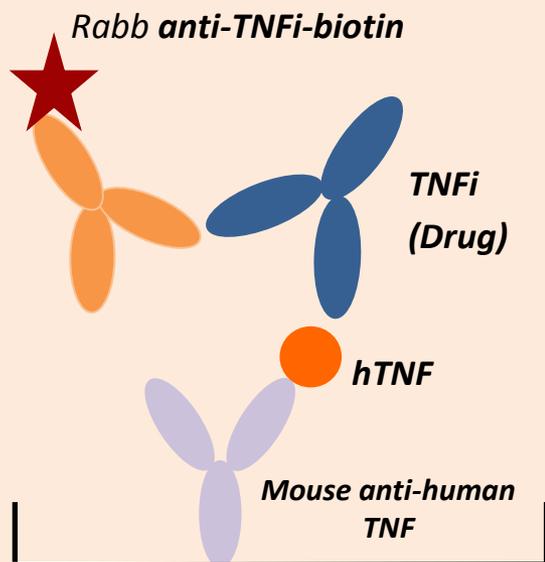


- **ADAb livres** – imunogenicidade clinicamente significativa
- **ADAb totais** – determinação em diferentes tempos (não apenas em vale) identificação de um subgrupo de doentes (baixos títulos) que poderão estar em risco de desenvolver imunogenicidade clinicamente significativa, a merecer vigilância clínica mais apertada.



## AVALIAÇÃO IMUNOGENICIDADE

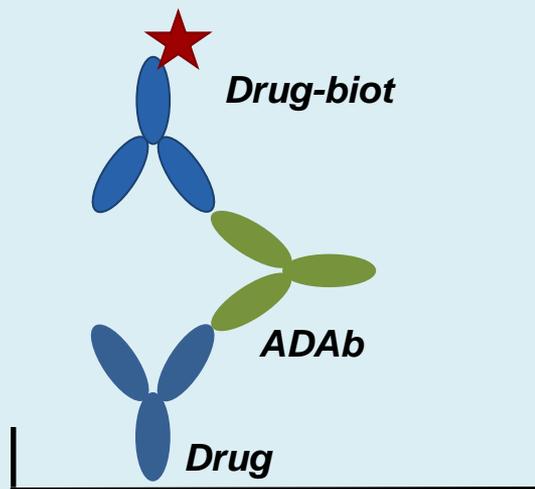
### Níveis de fármaco



**ELISA**

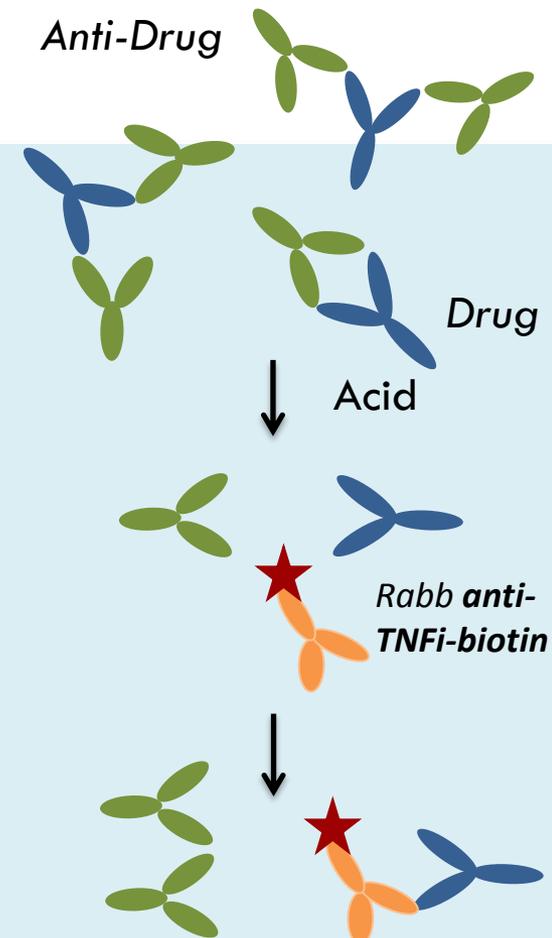
S0 – S8

### Níveis de ADAb



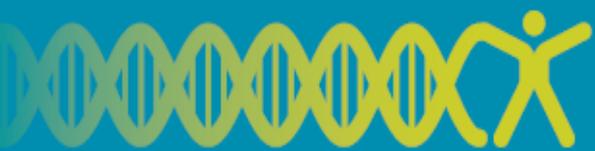
**Bridging ELISA**

S0 e S8 (Vale)



**pH-shift-anti-idiotypic ABT**

S1 – S7



## Imunossupressão concomitante

Azatioprina / 6-mercaptopurina / Metotrexato em dose terapêutica  $\geq 3$  meses

## Remissão

Sintomas e PCR  $< 0,5$  mg/dL e/ou Endoscopia sem úlceras.

## AMOSTRA

10 ml sangue periférico, centrifugação



## Duração da doença até ao início do biológico (meses)

duracao_dx_ifx					
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent	
Valid 0	2	9.1	9.1	9.1	
2	1	4.5	4.5	13.6	
4	1	4.5	4.5	18.2	
5	1	4.5	4.5	22.7	
6	2	9.1	9.1	31.8	
10	1	4.5	4.5	36.4	
11	1	4.5	4.5	40.9	
15	1	4.5	4.5	45.5	
33	2	9.1	9.1	54.5	
42	1	4.5	4.5	59.1	
56	1	4.5	4.5	63.6	
70	1	4.5	4.5	68.2	
72	1	4.5	4.5	72.7	
104	1	4.5	4.5	77.3	
110	1	4.5	4.5	81.8	
126	1	4.5	4.5	86.4	
129	1	4.5	4.5	90.9	
136	1	4.5	4.5	95.5	
192	1	4.5	4.5	100.0	
Total	22	100.0	100.0		

duracao_dx_ifx					
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent	
Valid 33	2	40.0	40.0	40.0	
42	1	20.0	20.0	60.0	
104	1	20.0	20.0	80.0	
126	1	20.0	20.0	100.0	
Total	5	100.0	100.0		

duracao_dx_ifx					
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent	
Valid 0	2	11.8	11.8	11.8	
2	1	5.9	5.9	17.6	
4	1	5.9	5.9	23.5	
5	1	5.9	5.9	29.4	
6	2	11.8	11.8	41.2	
10	1	5.9	5.9	47.1	
11	1	5.9	5.9	52.9	
15	1	5.9	5.9	58.8	
56	1	5.9	5.9	64.7	
70	1	5.9	5.9	70.6	
72	1	5.9	5.9	76.5	
110	1	5.9	5.9	82.4	
129	1	5.9	5.9	88.2	
136	1	5.9	5.9	94.1	
192	1	5.9	5.9	100.0	
Total	17	100.0	100.0		



## Ano diagnóstico

		dx			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	01.01.97	1	4.5	4.5	4.5
	01.11.97	1	4.5	4.5	9.1
	01.01.98	1	4.5	4.5	13.6
	01.01.00	2	9.1	9.1	22.7
	01.01.01	1	4.5	4.5	27.3
	01.01.05	1	4.5	4.5	31.8
	01.08.06	1	4.5	4.5	36.4
	01.10.06	1	4.5	4.5	40.9
	01.01.07	1	4.5	4.5	45.5
	01.07.07	2	9.1	9.1	54.5
	01.01.08	1	4.5	4.5	59.1
	01.04.08	1	4.5	4.5	63.6
	01.01.09	2	9.1	9.1	72.7
	01.02.09	1	4.5	4.5	77.3
	01.07.09	1	4.5	4.5	81.8
	01.03.12	1	4.5	4.5	86.4
	01.03.13	1	4.5	4.5	90.9
	25.05.13	1	4.5	4.5	95.5
	03.10.13	1	4.5	4.5	100.0
	Total	22	100.0	100.0	

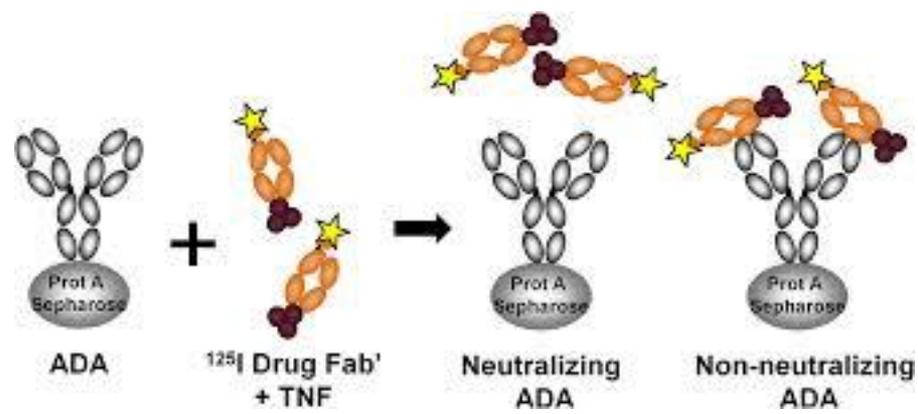
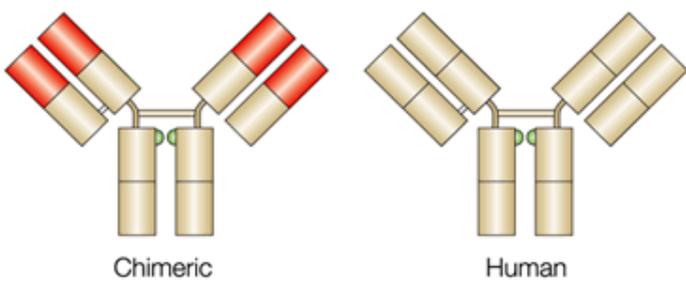
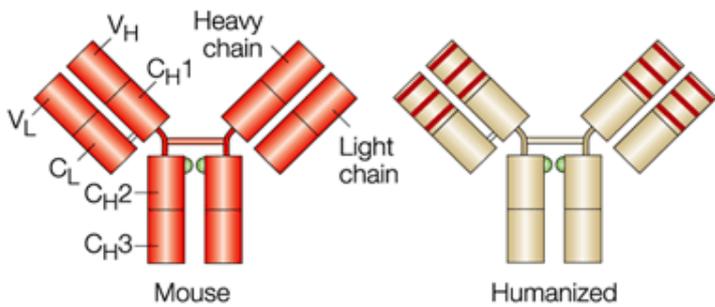
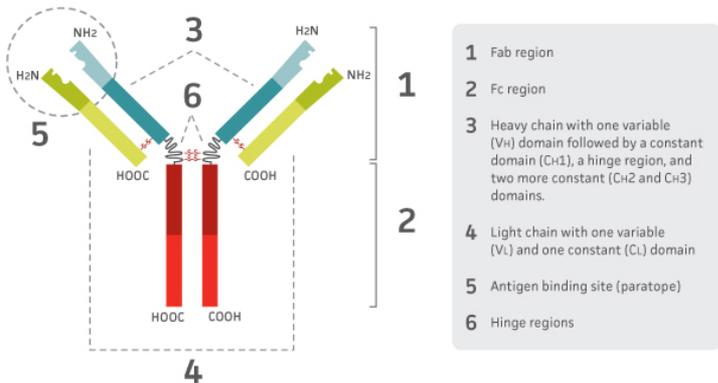


## Duração do biológico até à 1ª amostra (meses)

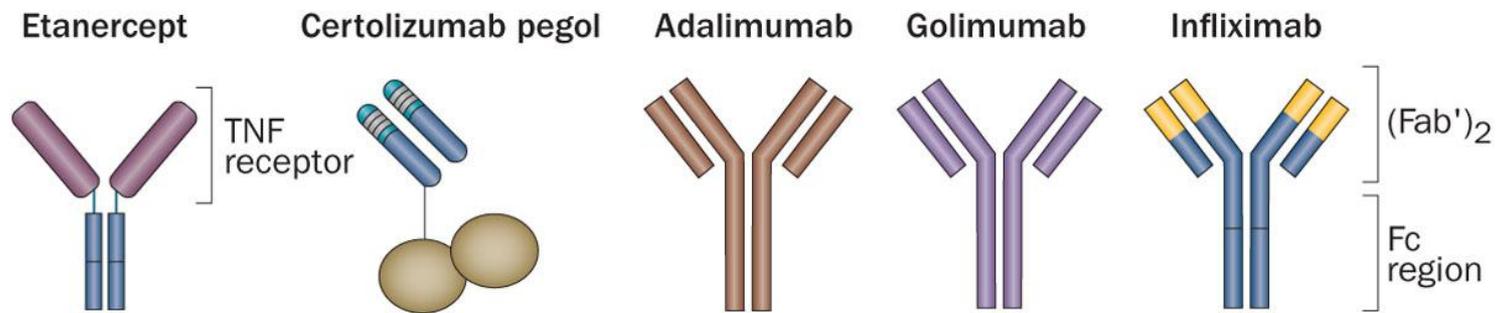
duracao_ifx_sample				
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 5	1	4.5	4.5	4.5
6	1	4.5	4.5	9.1
7	1	4.5	4.5	13.6
8	3	13.6	13.6	27.3
15	1	4.5	4.5	31.8
26	1	4.5	4.5	36.4
27	1	4.5	4.5	40.9
38	1	4.5	4.5	45.5
40	1	4.5	4.5	50.0
42	2	9.1	9.1	59.1
43	1	4.5	4.5	63.6
44	1	4.5	4.5	68.2
50	1	4.5	4.5	72.7
55	1	4.5	4.5	77.3
56	1	4.5	4.5	81.8
63	1	4.5	4.5	86.4
65	1	4.5	4.5	90.9
77	1	4.5	4.5	95.5
90	1	4.5	4.5	100.0
Total	22	100.0	100.0	

duracao_ifx_sample				
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 27	1	20.0	20.0	20.0
38	1	20.0	20.0	40.0
40	1	20.0	20.0	60.0
42	2	40.0	40.0	100.0
Total	5	100.0	100.0	

duracao_ifx_sample				
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 5	1	5.9	5.9	5.9
6	1	5.9	5.9	11.8
7	1	5.9	5.9	17.6
8	3	17.6	17.6	35.3
15	1	5.9	5.9	41.2
26	1	5.9	5.9	47.1
43	1	5.9	5.9	52.9
44	1	5.9	5.9	58.8
50	1	5.9	5.9	64.7
55	1	5.9	5.9	70.6
56	1	5.9	5.9	76.5
63	1	5.9	5.9	82.4
65	1	5.9	5.9	88.2
77	1	5.9	5.9	94.1
90	1	5.9	5.9	100.0
Total	17	100.0	100.0	



**Figure 1** The five anti-TNF agents approved for the treatment of rheumatoid arthritis



Permission obtained from Nature Publishing Group ©  
van Vollenhoven, R. F. *Nat. Rev. Rheumatol.* **7**, 205–215 (2011)

van Schouwenburg, P. A. *et al.* (2013) Immunogenicity of anti-TNF biologic therapies for rheumatoid arthritis  
*Nat. Rev. Rheumatol.* doi:10.1038/nrrheum.2013.4

These assays vary in their capacity to detect specific idiotypes and subclasses of ADA; for example, (low-affinity) IgM ADA are generally difficult to detect.<sup>24</sup> a | In bridging ELISA, a solid substrate is coated with the biologic agent of interest (in this case adalimumab). ADA in the patient's serum bind to the coating, and are detected using labelled drug. Bridging ELISA cannot detect IgG4 ADA. b | In the ABT, IgG from a serum sample is pulled down by protein A bound to a high-capacity solid carrier. Subsequently, radiolabelled drug F(ab')<sub>2</sub> is added and binds to any ADA present, and the amount of bound label in the precipitate is measured. c | The PIA is a modified ABT, in which any complexes of ADA bound to therapeutic antibodies in the patient's serum are first dissociated by lowering the pH. An excess of the Fab' portion of rabbit ADA is added to prevent the released drug molecules from binding to the ADA again. Abbreviations: ABT, antigen-binding test; ADA, anti-drug antibodies; PIA, pH-shift anti-idiotypic antigen-binding test.